

ДЕГРАДАЦИЯ, ВОССТАНОВЛЕНИЕ И ОХРАНА ПОЧВ

УДК 631.4:577.4:502.7

СРАВНЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ МИКРО- И НАНОЧАСТИЦ НУЛЬВАЛЕНТНОГО ЖЕЛЕЗА ПРИ ДЕТОКСИКАЦИИ ТЕХНОГЕННО-ЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЫ

© 2023 г. Ю. Д. Сергеева^а, А. П. Кирюшина^б, В. К. Калеро^с, О. А. Федорова^а, В. А. Терехова^{а, б, *}

^аМГУ им. М.В. Ломоносова, Ленинские горы, 1, Москва, 119991 Россия

^бИнститут проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Ленинский пр-т, 33, Москва, 119071 Россия

^сРоссийский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198 Россия

*e-mail: vterekhova@gmail.com

Поступила в редакцию 18.07.2022 г.

После доработки 24.09.2022 г.

Принята к публикации 27.09.2022 г.

Исследовали безопасность сорбентов на основе нульвалентного железа в форме микро- и наночастиц и их детоксицирующую активность в торфяной эвтрофной почве (Eutric Histosol), загрязненной выбросами медно-никелевого комбината (Кольской п-ов, Россия). Наночастицы железа, как и микрочастицы железа, в дозе 2% оказались нетоксичными по результатам трех стандартных биотестов, основанных на реакциях тест-организмов разной таксономической принадлежности. Токсичность оценивали по изменению длины корней проростков растений *Sinapis alba* L. в незагрязненном торфе, по выживаемости цериодафний *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg и простейших инфузорий *Paramecium caudatum* Ehrenberg в водных экстрактах образцов. Fe-содержащие препараты достоверно снижали экотоксичность почвы, обусловленную высоким содержанием меди (6877 мг/кг) и никеля (2580 мг/кг). Выявлены различия в ремедирующей способности препаратов. По результатам фитотестирования почвы наночастицы железа значительно превосходили детоксицирующий эффект микрочастиц железного порошка. При анализе водной вытяжки превосходство наночастиц в уменьшении токсичности почвы не обнаружено. Оценка детоксицирующей способности наночастиц нульвалентного железа зависит от почвенных свойств и вида растения, которое используется при фитотестировании. В стандартных биотестах с *S. alba* фитозффект наночастиц в 1.5 выше, чем микрочастиц железа (длина корней 117 ± 4.3 и 80 ± 7.6 мм соответственно). При оценке хронической фитотоксичности тех же почв на многолетней культуре райграсса *Lolium perenne* L. различий в добавках микро- и наночастиц нульвалентного железа не выявлено.

Ключевые слова: наносорбенты, экотоксичность, тяжелые металлы, ремедиация, биодоступность, фитотест, цериодафнии, инфузории

DOI: 10.31857/S0032180X22600962, **EDN:** BIUQRA

ВВЕДЕНИЕ

Разработка способов нейтрализации негативного действия тяжелых металлов и металлоидов на почвы и почвенные организмы многие десятилетия остается важной экологической проблемой [1, 2, 4, 10, 50, 52]. Для снижения токсичности разных видов поллютантов широкое применение находят углеродсодержащие продукты, такие как гуминовые препараты различного генезиса [11, 13, 23, 41, 42, 53] и продукты пиролизной обработки древесных и других органических отходов [11, 13, 17, 18, 41, 42, 53].

Большие надежды, связанные с разработкой эффективных сорбентов, возлагаются на нанотехнологии. Нанотехнологии играют все более важную роль в поиске инновационных и эффек-

тивных решений широкого круга экологических проблем. Использование и разработка наноматериалов провозглашаются экологически выгодной технологией. В открытом доступе находится более 1300 нанотехнологических продуктов, идентифицированных производителями, причем новые продукты появляются на рынке со скоростью 3–4 в неделю [21].

В последние годы углеродные нанотрубки и нановолокна, наноразмерное нульвалентное железо (zero-valent iron, ZVI) показали эффективность при очистке от различных загрязняющих веществ, включая хлорированные соединения, углеводороды, органические соединения и тяжелые металлы [3, 12, 37, 46]. Установленное преимущество наночастиц перед другими формами сор-

бентов обусловлено их малым размером (<100 нм) и большой удельной поверхностью [34].

В ряде работ, связанных с изучением детоксицирующей способности наночастиц, использовались различные сорбенты на основе железа, в том числе нульвалентного, в которых доказана их высокая эффективность по иммобилизации токсикантов [27, 45]. Большая удельная площадь поверхности увеличивает сорбционную способность наночастиц [28] и дает преимущество по сравнению с микрочастицами [34], однако быстрое окисление наночастиц приводит к резкому уменьшению их адсорбционных свойств [15].

Вместе с тем наночастицы нульвалентного железа могут быть токсичными для организмов, вызывая, в частности, окислительный стресс [51]. Они могут мигрировать в грунтовые воды, создавая дополнительные экологические проблемы [33]. В этой связи решаемые в настоящей работе задачи, а именно, анализ токсичности и почвы, и водных экстрактов из почвенных образцов, напрямую касаются этих проблем.

В попытках обосновать внедрение наносорбентов их эффективностью, вопросам безопасности наночастиц, распространяемых в природных средах, не уделяется должное внимание [12]. Экологические риски, связанные с использованием наноматериалов, оцениваются недостаточно [37, 43].

Проблемы оценки экотоксичности наноматериалов хорошо известны [12, 26], они в большой степени связаны со способностью агрегировать при реализации биотестов. В этой связи исследование экотоксичности наночастиц проводят не в чистом виде, а в композиции с нетоксичными веществами, способными предотвратить слипание и агрегирование частиц, такими как гуминовые продукты, биоуголь, кремнийсодержащие и другие химические компоненты [21, 32].

Поскольку в почвенной матрице наночастицы существенно преобразуются под действием окислительно-восстановительных процессов, взаимодействуя с твердой фазой почвы, почвенными коллоидами, растворенным органическим веществом, оценку экологического риска определенных наноматериалов целесообразно проводить в условиях конкретной почвы [5].

Проведенными ранее исследованиями показано отсутствие достоверных различий в эффектах разных форм железосодержащих материалов, добавленных в почву, загрязненную выбросами медно-никелевого (Cu/Ni) комбината, на вегетативный рост растений в горшках и иммобилизацию катионов металлов [24]. Для более полной сравнительной оценки детоксицирующих свойств препаратов микро- и наночастиц железа следует анализировать не только твердую массу почвы, но и водные экстракты почвенных образцов. Таковы требования стандартов по

обеспечению безопасности почвенных экотехнологий, поскольку водно-миграционный путь — основной при распространении токсикантов и ксенобиотиков в почвах (СанПиН 1.2.3685-21 “Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания”).

Несмотря на большое количество работ по использованию наночастиц нульвалентного железа для иммобилизации металлов в почве, практически отсутствуют сравнения экотоксичности и сорбционной активности микро- и наночастиц нульвалентного железа (микро- и наночастиц ZVI). В этой связи актуальным представляется анализ биобезопасности и детоксицирующего эффекта микро- и наночастиц ZVI в естественных почвах, загрязненных отходами медно-никелевого промышленного комплекса.

Задачи работы заключались в сравнении детоксицирующей способности добавок на основе железа (микро- и наночастицы ZVI), вносимых в торфяную эвтрофную почву импактной зоны медно-никелевого промышленного комплекса, и оценке экологической токсичности сравниваемых препаратов в незагрязненном торфе методами лабораторного экспресс-тестирования. Ремедиационный эффект и экотоксичность вносимых препаратов оценивали в биотестах с использованием стандартизованных тест-культур, представляющих высшие растения, низшие ракообразные: цериодафнии и инфузории.

Из-за высокой поверхностной энергии наночастицы ZVI склонны агрегировать в почве, что может снизить их эффективность [49, 55]. Чтобы преодолеть эту проблему использовали комбинированный препарат, в котором наночастицы ZVI анализировали исключительно в составе биоугля, полученного путем пиролиза [47]. Чтобы сбалансировать дизайн эксперимента проводили обработку микрочастицами ZVI без биоугля и биоуглем без микрочастиц ZVI.

В последующем обсуждении добавки на основе железа, поставляемые в матрице биоугля, будем называть “микрочастицы ZVI” и “наночастицы ZVI”.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

Почва. Для исследования использовали образцы почвы промышленной пустоши в 0.7 км от медно-никелевого (Cu/Ni) комбината (67°55'70" N, 32°51'50" E, подзона северной тайги, Кольский п-ов, Россия) с глубины 0–20 см (горизонт O) в десяти равноудаленных точках на общей площади 400 м². Почва характеризовалась как торфяная эвтрофная (Eutric Histosol [48]). Объединенный образец почвы сушили на воздухе при температуре 20 ± 2°C и измельчали до размера частиц <2 мм.

Для проверки нетоксичности добавленных продуктов использовали незагрязненный коммерческий торф (марка “Пельгорское”, Россия), далее “торф”.

Техногенно-преобразованная почва характеризовалась высокой степенью загрязнения тяжелыми металлами (Cd – 3.5 мг/кг, Co – 77 мг/кг, Cu – 6977 мг/кг и Ni – 2580 мг/кг, Zn – 80 мг/кг) и кислотностью (рН 4.5 ± 0.09) [24]. Суммарные концентрации Cd, Co, Cu и Ni были в несколько раз больше соответствующих фоновых концентраций. При таком условии для нейтрализации и снижения токсичности рекомендуется применять обработку доломитом [30, 31]. С этой целью в почву добавляли доломит – коммерческую доломитовую известь (марка БХЗ, Россия): в загрязненную почву в дозе 3%, в незагрязненный промышленного производства торф, кислотность которого была меньше, добавляли 1.5% доломита.

Во всех обработках применяли универсальное удобрение (“Фертика”, Россия) согласно рекомендациям производителя для видов злаков (0.4 г удобрения на 1 кг субстрата). Удобрение имело следующий состав макро- и микроэлементов (%): $\text{NH}_4\text{-N}$ 6.6, $\text{NO}_3\text{-N}$ 4.4, P_2O_5 12, K_2O 26, MgO 0.4, S 0.7, Ca 0.55, Mn 0.16, Cu 0.08, B 0.09, Fe 0.16, Zn 0.09, Mo 0.008.

Обработку почвенных образцов проводили двумя железосодержащими препаратами: железным порошком и наночастицами нульвалентного железа, которые были включены матрицу биоугля. Препараты вносили в почву в форме порошков, затем тщательно перемешивали.

Железный порошок. В работе использовали коммерчески доступный железный порошок (размером <100 мкм) с минимальным количеством примеси Mn, Ni и Cu (0.03, 0.02 и 0.003% соответственно) [24].

Наночастицы нульвалентного железа (размером <100 нм), включенные в матрицу биоугля, приобретали в компании LAC NanoTech (Židlochovice, Чехия). В дальнейшем этот продукт будем называть “композит наночастиц ZVI/биоуголь” или просто “композит”. Композит готовили из опилок сосны и ели, предварительно обработанных порошком гематита ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), путем пиролиза смеси в атмосфере азота при 700°C [24]. Емкость катионного обмена составляла 15 смоль(+)/кг, $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ 11.

Железосодержащие добавки и биоуголь вносили в загрязненную почву в дозе 2% в форме порошков. Почва, не содержащая добавок, служила контролем (необработанная почва). Подготовленные образцы почвы массой 1 кг помещали в контейнер емкостью 5 л, еженедельно увлажняли ~1.5 л дистиллированной воды и оставляли сушиться при комнатной температуре ($20\text{--}25^\circ\text{C}$).

Еженедельные циклы увлажнения–сушки продолжали, чтобы добавленные продукты прореагировали в почве. Экспозицию почвы с добавками продолжали в течение одного месяца.

Концентрацию обменных Cu, Ni, Zn, Mn и Cd определяли с помощью оптико-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (ICP-OES). В качестве экстрагента использовали раствор 0.01 М KNO_3 (соотношение почва : раствор 1 : 25), который в отличие от 0.01 М CaCl_2 не занижает долю обменных катионов из-за осаждения металлов с сильным сродством к растворенному органическому углероду [39]. Полученную суспензию встряхивали в течение 60 мин, а затем фильтровали через беззольную фильтровальную бумагу. рН почвы измеряли в том же 0.01 М экстракте KNO_3 . Содержание органического вещества в почве и промышленном торфе, определенное по потере при прокаливании при 600°C , составило 71 и 90% соответственно.

Оценка экотоксичности методами биотестирования. Загрязненные образцы почв без и с обработкой потенциальными ремедиантами, подвергали оценке острой экотоксичности в трех биотестах, согласно стандартным методикам.

Фитотестирование почв на высших растениях *Sinapis alba*. Для проведения фитотестирования и оценки острой фитотоксичности аппликатным способом использовали твердую массу почв. Тестирование проводили на семенах *Sinapis alba* L. в пластиковых планшетах аппликатным способом согласно методике Фитоскан-2 ФР.1.31.2020.38716 [9]. Увлажненную (60% от полной влагоемкости) почву массой 60 г помещали в нижнюю камеру пластикового двухкамерного планшета, укрывали фильтровальной бумагой, на которую раскладывали семена растений. В каждый планшет помещали 10 семян, каждый вариант имел трехкратную повторность, всего 30 семян на вариант. Учитывали длину корней проростков семян горчицы белой через 96 ч.

Тестирование водных экстрактов почв на гидробионтах. Водные экстракты почвенных образцов (в объеме 0.5 дм^3) готовили в соотношении 1 : 10 (почва : культивационная вода). Образцы помещали в широкогорлые колбы, встряхивали на шейкере 2 ч, отстаивали и отжимали торфяную почву на фильтре “белая лента”. Измеряли рН и минерализацию экстрактов для оценки пригодности пресноводных тест-культур.

Биотестирование на ракообразных. Анализировали доступность токсичных веществ в почве по выживаемости (иммобилизации) низших ракообразных: цериодафний *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg в водных экстрактах образцов согласно стандартной методике. Испытания проводили, согласно ФР.1.39.2007.03221 [7], в соответствии с модифицированной стандартной процедурой

Таблица 1. Влияние различных обработок на длину корней горчицы белой *Sinapis alba*, выращенной на незагрязненном коммерческом торфе. Показаны средние значения и стандартные отклонения ($n = 30$)

| Обработка | Длина корней горчицы, мм |
|--|--------------------------|
| Доломит | $48 \pm 13^*$ |
| Доломит + композит наночастиц ZVI/биоуголь | $117 \pm 2^*$ |

Примечание. Звездочка указывает на статистически значимое различие ($p < 0.05$) между обработками.

OECD (OECD 202 (2004) OECD Guideline for Testing of Chemicals. *Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test). Для биотестирования в стандартных лабораторных условиях использовали генетически однородные в основном 24-часовых партеногенетических мальков из третьего поколения от исходной особи *Ceriodaphnia affinis*. Перед началом эксперимента оценивали чувствительность тест-культуры по реакции на модельный токсикант — калий бихромат. Соответствие стандарту оценивали по величине LC_{50} за 24 ч, которая должна находиться в пределах $1.0\text{--}2.5$ мг/дм³.

В сосуды (бакпечатки) с 20 мл испытуемой пробы помещали по 4 цериодафнии, всего 5 повторностей на одну пробу. Суммарно анализируемая выборка рачков для каждого варианта опыта была представлена 20 особями.

Экспозицию проб с цериодафниями проводили в климатостате при оптимальной освещенности (400–600 лк), фотопериоде 16 : 8 свет/темнота и температуре ($23 \pm 1^\circ\text{C}$). Через 48 ч взаимодействия с пробой подсчитывали смертность цериодафний. К погибшим относили иммобилизованных рачков, которые оставались обездвиженными после 30-секундного легкого покачивания пробы. Результаты опыта принимали к обработке при условии, если гибель цериодафний в контроле к концу периода наблюдений не превышала 10% и концентрация растворенного кислорода в тестируемой воде к концу биотестирования составляла не менее 5.0 мг/дм³.

Биотестирование на инфузориях. Определение токсичности образцов проводили по реакции простейших — одноклеточных инфузориях *Paramecium caudatum* Ehrenberg, согласно ФР.1.39.2006.02506/ПНД Ф 14.1:2.3.13-06/16.1:2.3.3.10-06 [8], при микроскопировании проб в лунках иммунологического планшета, куда к объему 0.6 см³ тестируемой пробы помещали по 10 особей в объеме культуральной жидкости, не превышающей 0.02 см³. В сумме выборка инфузорий для каждого варианта насчитывала 30 особей. Планшет с заполненными лунками выдерживали при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$, после чего под микроскопом производили учет выжив-

ших и погибших особей. Выжившими считали инфузорию, которые свободно перемещались в толще воды. Обездвиженных особей относили к погибшим. Острое токсическое действие исследуемой пробы на инфузориях фиксировали по их смертности (летальности) за 24 ч период экспозиции при условии, что в контроле гибель не превышает 10% тест-организмов.

Статистический анализ. Влияние обработок на характеристики почвы и реакцию тест-организмов растений сравнивали с помощью теста Тьюки ($p \leq 0.05$). Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Биотестирование экологической токсичности микро- и наночастиц нульвалентного железа в незагрязненном торфе

В предварительном эксперименте оценку безопасности добавок доломита и композита наночастиц ZVI/биоуголь на фоне доломита проводили в незагрязненном торфяном почвогрунте промышленного производства.

Фитотестирование. По результатам развития корней проростков семян *Sinapis alba* в варианте с добавлением композита наночастиц железа с биоуглем на фоне доломита наблюдалась заметная стимуляция развития корней — в 2.4 раза от носителя образцов, в которых был добавлен только доломит (табл. 1).

В данном исследовании наночастицы ZVI не проявляли фитотоксичности несмотря на то, что некоторые авторы указывают на возможность окислительного стресса, спровоцированного у организмов их действием [51]. В то же время в других работах показано, что наночастицы железа защищают растения пшеницы от окислительного стресса, в частности, вызванного присутствием кадмия [45].

Тестирование на гидробионтах. Анализ водных экстрактов образцов незагрязненного торфа с доломитом и композитом, проведенный по выживаемости стандартизованных тест-культур цериодафний и инфузорий, подтвердил нетоксичность композита (табл. 2).

Выживаемость цериодафний достоверно не различалась в двух исследованных вариантах торфа, тогда как выживаемость инфузорий в вариантах доломит + композит наночастиц ZVI/биоуголь была больше, чем в варианте только с доломитом.

Таким образом, проверка безопасности ремедиантов в трех тест-системах при внесении в незагрязненный торфяной почвогрунт продемонстрировала, что как микрочастицы, так и наночастицы нульвалентного железа не проявляли токсичности по отношению к примененным тест-организмам.

Таблица 2. Влияние различных обработок на ответные отклики организмов в водной вытяжке из незагрязненного коммерческого торфа. Показаны средние значения и стандартные отклонения

| Обработка | Выжившие цериодафний из 4 в начале экспозиции, единицы ($n = 5$) | Выжившие инфузорий из 10 в начале экспозиции, единицы ($n = 3$) |
|--|--|---|
| Доломит | $4.3 \pm 0.96^{\text{н.з.}}$ | $5.6 \pm 0.58^*$ |
| Доломит + композит наночастиц ZVI/биоуголь | $4.0 \pm 0^{\text{н.з.}}$ | $8.3 \pm 0.58^*$ |

Примечание. Звездочка указывает на статистически значимое различие ($p < 0.05$) между обработками для данного отклика. ^{н.з.} – различие статистически незначимое.

Таблица 3. Влияние различных обработок на pH и концентрации (мг/л) металлов в солевой вытяжке из исследуемой почвы

| Обработка | pH | Co | Cu | Mn | Ni | Zn |
|--|-----|-------|-----|------|------|-------|
| Контроль | 4.6 | 0.30 | 4.7 | 2.1 | 7.4 | 0.17 |
| Доломит | 5.6 | 0.046 | 1.2 | 0.47 | 1.1 | 0.022 |
| Доломит + биоуголь | 5.3 | 0.037 | 1.2 | 0.34 | 0.95 | 0.021 |
| Доломит + железный порошок | 5.3 | 0.031 | 1.1 | 0.28 | 0.79 | 0.020 |
| Доломит + биоуголь + железный порошок | 5.3 | 0.031 | 1.0 | 0.30 | 0.75 | 0.018 |
| Доломит + композит наночастиц ZVI/биоуголь | 5.0 | 0.052 | 1.2 | 0.51 | 1.2 | 0.033 |

Примечание. Для экстракции использовали 0.01 н. раствор KNO_3 при соотношении почва : раствор 1 : 25.

Таблица 4. Влияние различных обработок загрязненной почвы на длину корней горчицы белой *Sinapis alba* (средние значения и стандартные отклонения ($n = 30$))

| Обработка | Длина корней горчицы белой <i>S. alba</i> , мм |
|--|--|
| Контроль | $30 \pm 5.1^{\text{a}}$ |
| Доломит | $56 \pm 3.7^{\text{b}}$ |
| Доломит + биоуголь | $68 \pm 2.9^{\text{c}}$ |
| Доломит + железный порошок | $63 \pm 7.3^{\text{d}}$ |
| Доломит + биоуголь + железный порошок | $80 \pm 7.6^{\text{e}}$ |
| Доломит + композит наночастиц ZVI/биоуголь | $117 \pm 4.3^{\text{f}}$ |

Примечание. Разные буквы указывают на статистически значимые различия ($p < 0.05$) между обработками (тест Тьюки).

Сравнение эффектов микро- и наночастиц железа в загрязненной почве

Химические свойства. Обработка исследуемыми железосодержащими препаратами наножелеза, доломита и биоугля загрязненной почвы оказала влияние на pH и концентрацию катионов металлов в солевой вытяжке (табл. 3). Добавка доломита способствовала небольшому раскислению почвы (с 4.6 до 5.6) и заметному снижению концентрации подвижных форм исследованных металлов (кобальта, меди, никеля, цинка, марганца). Другие добавки на фоне доломита не оказали значимого влияния на pH и концентрацию тяжелых металлов.

Развитие корней растений. Результаты фитотестирования показали, что микро- и наночастицы

железа, как и все другие добавки, в загрязненной почве не угнетали развитие корней растений, а напротив, стимулировали. Во всех вариантах обработанной почвы наблюдалось значимое превышение средней длины корней относительно контроля (необработанной почвы) (табл. 4).

При сравнении двух вариантов обработки почвы с участием наночастиц (композит наночастиц ZVI/биоуголь) и микрочастиц железа (железный порошок) можно говорить о заметном преимуществе наночастиц как ремедиантов загрязненной почвы. Длина корней растений в первом случае (117 ± 4.3 мм) в 1.5 раза выше, чем во втором (80 ± 7.6 мм).

В целом ряд уменьшения ремедиационного эффекта по показателю фитотоксичности для ва-

Таблица 5. Влияние различных обработок загрязненной почвы на ответные отклики тест-организмов (циериодафнии *Ceriodaphnia affinis* и простейшие – инфузории *Paramecium caudatum*) в водных экстрактах из образцов. Показаны средние значения и стандартные отклонения

| Обработка | Выжившие цериодафнии из 4 в начале экспозиции, единицы ($n = 5$) | Выжившие инфузории из 10 в начале экспозиции, единицы ($n = 3$) |
|--|--|---|
| Контроль | 0 ± 0^a | 1.3 ± 0.58^a |
| Доломит | 1 ± 0^b | 6.3 ± 0.58^c |
| Доломит + биоуголь | 1.5 ± 0.58^b | 6.0 ± 0^b |
| Доломит + железный порошок | 4 ± 0^c | 6.3 ± 0.58^c |
| Доломит + биоуголь + железный порошок | 4 ± 0^c | 7.7 ± 0.58^c |
| Доломит + композит наночастиц ZVI/биоуголь | 4 ± 0^c | 8.3 ± 0.58^c |

Примечание. Разные буквы указывают на статистически значимые различия ($p < 0.05$) между обработками для данного отклика (тест Тьюки).

риантов обработки можно представить следующим образом: (доломит + композит наночастиц ZVI/биоуголь) > (доломит + биоуголь + железный порошок) > (доломит + биоуголь) > (доломит + железный порошок) > доломит.

Выживаемость гидробионтов в водных экстрактах из почвенных образцов

Результаты оценки проб по реакции гидробионтов в водных экстрактах исследуемых образцов свидетельствуют о высокой токсичности исходной необработанной почвы, поскольку в этом варианте не наблюдалось выживших рачков и заметно (более чем в 7 раз) снизилось число живых особей инфузорий. Обработка доломитом несколько снизила токсичность исходной почвы (табл. 5).

Достоверных различий в уменьшении токсичности, оцененных по критерию Тьюки, между образцами с добавками микро- и наночастиц железа по реакции гидробионтов не выявлено. Нет статистически значимых различий также между этими двумя вариантами и добавкой доломита с железным порошком при биотестировании как на инфузориях, так и на цериодафниях.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате экотоксикологических анализов почв, проведенных в серии биотестов, установлено, что наночастицы нульвалентного железа в композиции с биоуглем (в дозе 2% каждого компонента) являются безопасными для живых организмов исследованных таксономических групп, представляющих продуценты и консументы в трофических сетях биоценозов.

При обработке исследуемыми сорбентами почвы из импактной зоны индустриального комплекса показано достоверное снижение токсич-

ности практически во всех тест-системах. Их заметный ремедирующий эффект на загрязненную почву, оцененный по выживаемости и развитию тест-культур организмов, хорошо согласуется с данными о снижении содержания биодоступных катионов металлов. При этом установлены различия в степени экотоксичности почв, обработанных разными ремедиантами, в отношении разных тест-организмов.

Биотестирование показало, что примененные варианты обработки различаются по степени нейтрализации токсического действия загрязненной почвы. В опытах с *Sinapis alba* наночастицы железа оказали наибольший детоксицирующий эффект, а в опытах с *Paramecium caudatum* и *Ceriodaphnia affinis* размер частиц железа не имел значения.

О влиянии наночастиц на прорастание семян овощных и злаковых культур указывают многие авторы [6, 14, 35]. В ряде работ отмечается стимуляция прорастания и дальнейшего развития проростков нанопорошками или водными суспензиями наночастиц железа [14, 35, 36]. Предпосевная обработка семян сои сверхнизкой дозой нанокристаллов достоверно изменила биологические показатели роста и развития растений: в лабораторных опытах всхожесть семян сои, обработанных нульвалентными Cu, Co и Fe, составила 65, 80 и 80% соответственно, тогда как в контрольном образце наблюдалась всхожесть 55%; в полевом опыте для всех исследованных наноразмерных металлов хлорофилльный индекс увеличился на 7–15%, количество клубеньков – на 20–49% по сравнению с контрольным образцом, а урожайность сои – на 16% [36].

Другими авторами [45], напротив, отмечается ингибирование развития растений наночастицами оксидов металлов [44]. Большое значение имеет среда, в которой происходит оценка токсичности. Наночастицы оксидов металлов катализируют

окисление органических загрязнителей в водных суспензиях, но не всегда вызывают изменения в органическом материале почвы, что отражается на различиях в их токсикометрических показателях в воде и почве [19]. При испытании экологической токсичности наночастиц нульвалентного железа с помощью тестов на прорастание семян райграсса, ячменя и льна ингибирующие эффекты наблюдались в водных суспензиях при 250 мг ZVI/л [45], а в почве при 1000 мг ZVI/кг почвы. Имеет значение и тип почвы, и вид растений. Полное ингибирование в песчаной почве наблюдалось при 750 и 1500 мг/кг для льна и райграсса, соответственно, в то время как для ячменя 13% всхожести все еще наблюдались при 1500 мг/кг. В глинистой почве ингибирование было менее выражено. В целом, наночастицы ZVI в низких концентрациях могут использоваться без вредного воздействия на растения и, таким образом, они подходят для комбинированной реабилитации почв, когда задействованы растения (при фиторемедиации) [45].

Таким образом, в настоящее время доказана зависимость эффектов наночастиц железа на растения как от типа почвы, так и от вида растения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проверка безопасности наночастиц нульвалентного железа при внесении в незагрязненный торфяной субстрат показала их нетоксичность.

При исследовании эффективности Fe-содержащих препаратов по показателям экотоксичности образцов техногенно-загрязненной почвы установлено, что они достоверно уменьшают экотоксичность, обусловленную экстремально высоким содержанием меди (6877 мг/кг) и никеля (2580 мг/кг почвы), превышающим ПДК в 127 и 30 раз соответственно. При сопоставлении детоксицирующей способности исследуемых сорбентов (микро- и наночастиц ZVI) по результатам биотестирования в разных тест-системах на основе реакции растений, ракообразных и инфузорий, выявлены различия в их эффективности снижения уровня экотоксичности почвенных образцов.

Ряд уменьшения фитотоксичности загрязненной почвы под действием разных вариантов обработки можно представить следующим образом: самый эффективный препарат представлен композитом биоугля с наночастицами нульвалентного железа на фоне доломита, меньшая эффективность обнаружена у комбинации (доломит + биоуголь + железный порошок), затем следует (доломит + биоуголь), (доломит + железный порошок) и наименьший эффект дал доломит.

Выживаемость цериодафний и инфузорий при обработке микро- и наночастицами увеличилась

относительно контроля, но размер частиц железа не имел значения.

Можно констатировать, что наночастицы в составе композита с биоуглем не имеют превосходства в снижении острой токсичности почвы (почвенных экстрактов) в биотестах на гидробионтах, при этом выявлены их статистические значимые преимущества перед микрочастицами (железным порошком) при оценке целой почвы в экспресс-тестостях на *Sinapis alba*. При оценке хронической фитотоксичности этих же образцов на других растениях (в вегетационных сосудах на многолетней культуре райграсса *Lolium perenne* L.) различий в добавках микро- и наночастиц нульвалентного железа не выявлено [24]. Это подчеркивает определяющее значение условий тестирования детоксицирующей способности наночастиц нульвалентного железа, в частности, отмеченную ранее зависимость результатов оценки от почвенных свойств и вида растений, которые используются при фитотестировании [45].

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы признательны сотрудникам РУДН за предоставление образцов почв, обработанных сорбентами, магистру С.Д. Кузнецовой – за статистическую обработку данных, М.М. Карпухину – за участие в проведении химических анализов, А.А. Неаману – за обсуждение результатов экспериментов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ, грант 20-54-26012 Чехия_а “Эффективность инновационных наносорбентов металлов и металлоидов в почвах, загрязненных выбросами металлургических предприятий: сравнительная оценка на основе геохимических и экотоксикологических параметров”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Водяницкий Ю.Н., Ладонин Д.В., Савичев А.Т.* Загрязнение почв тяжелыми металлами. М., 2012. 304 с.
2. *Ильин В.Б.* Тяжелые металлы в системе почва-растение // Почвоведение. 2007. № 9. С. 112–119.
3. *Ильцова Р.Р., Гайнетдинова Ю.М., Массалимов И.А., Мустафин А.Г.* Изучение сорбционных свойств наночастиц железосодержащего сорбента по отношению к ионам тяжелых металлов // Химическая физика. 2017. Т. 36. № 8. С. 90–93. <https://doi.org/10.7868/S0207401X17080040>
4. *Копчик Г.Н.* Проблемы и перспективы фиторемедиации почв, загрязненных тяжелыми металлами

- (обзор литературы) // Почвоведение. 2014. № 9. С. 1113–1130.
5. Куликова Н.А. Наночастицы серебра в почве: поступление, трансформация, токсичность (обзор) // Почвоведение. 2021. № 3. С. 304–319.
 6. Маслоброд С.Н., Миргород Ю.А., Бородина В.Г., Борщ Н.А. Влияние водных дисперсных систем с наночастицами серебра и меди на прорастание семян // Электронная обработка материалов. 2014. № 4. Р. 103–112.
 7. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодovitости цериодафний. ФР.1.39.2007.03221 (<https://fgis.gost.ru/fundmetrology/registry/16>)
 8. Методика определения токсичности отходов, почв, осадков сточных вод, сточных, поверхностных и грунтовых вод методом биотестирования с использованием равноресничных инфузорий *Paramecium caudatum* Ehrenberg. ФР.1.39.2006.02506/ПНД Ф 14.1.2:3.13-06/16.1:2.3:3.10-06.
 9. Методика измерений биологической активности почв, субстратов растений, гуминовых веществ методом биотестирования. Фитоскан-2. ФР.1.31.2020.38716.
 10. Плеханова И.О., Золотарева О.А., Тарасенко И.Д. Применение методов биотестирования при оценке экологического состояния почв // Вестник Моск. ун-та. Сер. 17, почвоведение. 2018. № 4. С. 36–46.
 11. Пукальчик М.А., Терехова В.А., Вавилова В.М., Карпухин М.М. Сравнение элюатных и контактных методов биотестирования при оценке почв, загрязненных тяжелыми металл(иод)ами // Почвоведение. 2019. № 4. С. 507–514. <https://doi.org/10.1134/S0032180X19040117>
 12. Терехова В.А., Гладкова М.М. Инженерные наноматериалы в почве: проблемы оценки их воздействия на живые организмы // Почвоведение. 2014. № 1. С. 82–90.
 13. Abd El-Azeem S.A.M., Ahmad M., Usman A.R.A., Oh S.E., Lee S.S., Ok Y.S. Changes of biochemical properties and heavy metal bioavailability in soil treated with natural liming materials // Environ. Earth Sci. 2013. V. 70. P. 3411–3420. <https://doi.org/10.1007/s12665-013-2410-3>
 14. Alam M.J., Sultana F., Iqbal M.T. Potential of iron nanoparticles to increase germination and growth of wheat seedling // J. Nanosci. Adv. Technol. 2015. V. 1. № 3. P. 14–20.
 15. Bae J., Li Y., Zhang J., Zhou X., Zhao F. et al. A 3D nanostructured hydrogel-framework-derived high-performance composite polymer lithium-ion electrolyte // Angewandte Chemie. 2018. V. 57(8). P. 2096–2100. <https://doi.org/10.1002/anie.201710841>
 16. Bardos P., Merly C., Kvapil P., Koschitzky H.P. Status of nanoremediation and its potential for future deployment: Risk-benefit and benchmarking appraisals // Remediation J. 2018. V. 28. № 3. P. 43–56.
 17. Beesley L., Jiménez E.M., Eyles J.L.G. Effects of biochar and green waste compost amendments on mobility, bioavailability and toxicity of inorganic and organic contaminants in a multi-element polluted soil // Environ. Pollut. 2010. V. 158. P. 2282–2287. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.02.003>
 18. Beesley L., Moreno-Jiménez E., Gomez-Eyles J.L., Harris E., Robinson B., Sizmur T. A review of biochars' potential role in the remediation, revegetation and restoration of contaminated soils // Environ. Poll. 2011. V. 159 № 12. P. 3269–3282. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.07.023>
 19. Ben-Moshe T., Frenk S., Dror I., Minz D., Berkowitz B. Effects of metal oxide nanoparticles on soil properties // Chemosphere. 2013. V. 90. № 2. P. 640–646. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.09.018>
 20. Blok C., Persoone G., Wever G. A practical and low cost microbiodtest to assess the phytotoxic potential of growing media and soil // ISHS Acta Horticulturae. 2008. V. 779. P. 367–374.
 21. Bondarenko O., Juganson K., Ivask A. et al. Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review // Arch. Toxicol. 2013. V. 87. P. 1181–1200. <https://doi.org/10.1007/s00204-013-1079-4>
 22. Bondarenko L., Terekhova V., Kahru A., Dzhardimalieva G., Kelbysheva E., Tropkaya N., Kydraliev, K. Sample preparation considerations for surface and crystalline properties and ecotoxicity of bare and silica-coated magnetite nanoparticles // RSC Adv. 2021.11. P. 32227–32235.
 23. Borggaard O.K., Holm P.E., Jensen J.K., Soleimani M., Strobel B.W. Cleaning heavy metal contaminated soil with soluble humic substances instead of synthetic polycarboxylic acids // Acta Agric. Scand. 2011. V. 61. P. 577–581. <https://doi.org/10.1080/09064710.2010.515602>
 24. Dovletyarova E.A., Fareeva O.S., Zhikharev A.P. et al. Choose your amendment wisely: Zero-valent iron nanoparticles offered no advantage over microparticles in a laboratory study on metal immobilization in a contaminated soil // App. Geochem. 2022. V. 143. P. 1053–1069.
 25. Galdames A., Ruiz-Rubio L., Orueta M., Sánchez-Arzaluz M., Vilas-Vilela J.L. Zero-Valent Iron Nanoparticles for Soil and Groundwater Remediation // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2020. V. 17. P. 5817. <https://doi.org/10.3390/ijerph17165817>
 26. Gladkova M.M., Terekhova V.A. Engineered nanomaterials in soil: Sources of entry and migration pathways // Moscow University Soil Science Bulletin. 2013. V. 68. № 3. P. 29–134.
 27. Gong Y., Guo J., Li J., Zhu K. et al. Experimental realization of an intrinsic magnetic topological insulator // Chinese Phys. Lett. 2019. № 36. P. 076801.
 28. Jawed A., Pandey L.M. Application of bimetallic Al-doped ZnO nano-assembly for heavy metal removal and decontamination of wastewater // Water Sci. Technol. 2019. V. 80. № 11. P. 2067–2078.
 29. Komárek M., Vaněk A., Ettler V. Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides – A review // Environ. Poll. 2013. V. 172. P. 9–22. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.07.045>
 30. Kukier U., Chaney R.L. Remediating Ni-phytotoxicity of contaminated Quarry muck soil using limestone and hydrous iron oxide // Can. J. Soil Sci. 2000. P. 581–593.
 31. Kukier U., Chaney R.L. In situ remediation of nickel phytotoxicity for different plant species // J. Plant Nu-

- trition. 2004. P. 465–495.
<https://doi.org/10.1081/PLN-120028874>
32. *Kydralievа K., Bondarenko L., Terekhova V., Chistyakova N., Patsaeva S., Rabinskiy L., Dzhardimalieva G.* Characterization and bioactivity of magnetite-based nanocomposites // *Materials Today*. 2021. V. 34. P. 317–321.
 33. *Lefevre E., Bossa N., Wiesner M.R., Gunsch C.K.* A review of the environmental implications of in situ remediation by nanoscale zero valent iron (nZVI): behavior, transport and impacts on microbial communities // *Sci. Total Environ*. 2016. V. 565. P. 889–901
 34. *Mueller N.C., Nowack B.* Nanoparticles for Remediation: Solving Big Problems with Little Particles // *Elements*. 2010. V. 6. № 6. P. 395–400.
<https://doi.org/10.2113/gselements.6.6.395>
 35. *Mushtaq Y.K.* Effect of nanoscale Fe₃O₄, TiO₂ and carbon particles on cucumber seed germination // *J. Environ. Sci. Health. A*. 2011. V. 46. № 14. P. 1732–1735.
 36. *Ngo Q.B., Dao T.H., Nguyen H.C., Tran X.T., Van Nguyen T., Khuu T.D., Huynh T.H.* Effects of nanocrystalline powders (Fe, Co and Cu) on the germination, growth, crop yield and product quality of soybean (Vietnamese species DT-51) // *Adv. Natural Sci.: Nanosci. Nanotechnol.* 2014. V. 5. № 1. P. 015016.
 37. *Patil S.S., Shedbalkar U.U., Truskewycz A., Chopade B.A., Ball A.S.* Nanoparticles for environmental clean-up: A review of potential risks and emerging solutions // *Environ. Technol. Innovat.* 2016. V. 5. P. 10–21.
<https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.11.001>
 38. *Plekhanova I.O., Zolotareva O.A., Tarasenko I.D.* Application of Biotesting Methods at Assessment of Ecological State of Soils // *Moscow University Soil Science Bulletin*. 2018. V. 73. № 4. P. 163–173.
 39. *Prudnikova E.V., Neaman A., Terekhova V.A., Karpukhin M.M., Vorobeichik E.L., Smorkalov I.A., Dovletyarova E.A., Navarro-Villarroel K., Ginocchio R., Peñaloza P.* Root elongation method for the quality assessment of metal-polluted soils: Whole soil or soil-water extract? // *J. Plant Nutrition Soil Sci.* 2020. № 20. P. 2294–2303.
<https://doi.org/10.1007/s42729-020-00295-x>
 40. *Pukalchik M., Kydralievа K., Yakimenko O., Fedoseeva E., Terekhova V.* Outlining the potential role of humic products in modifying biological properties of the soil – a review // *Frontiers Environ. Sci.* 2019. № 7.
<https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00080>
 41. *Pukalchik M., Merc F., Terekhova V.A., Tlustos P.* Biochar, wood ash, and humic substances mitigating trace elements stress in contaminated sandy loam soil: evidence from an integrative approach // *Chemosphere*. 2018. V. 203. P. 228–238.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.03.181>
 42. *Pukalchik M.A., Terekhova V.A., Karpukhin M.M., Vavilova V.M.* Comparison of Eluate and Direct Soil Bioassay Methods of Soil Assessment in the Case of Contamination with Heavy Metals // *Eurasian Soil Sci.* 2019. T. 52. № 4. C. 464–470.
<https://doi.org/10.1134/S1064229319040112>
 43. *Qian Y., Qin C., Chen M., Lin S.* Nanotechnology in soil remediation – applications vs. implications // *Eco-toxicology and Environmental Safety*. 2020. № 201. P. 110815.
 44. *Rajput V.D., Minkina T.M., Sushkova S.N. et al.* Effects of zinc-oxide nanoparticles on soil, plants, animals and soil organisms: A review // *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*. 2018. V. 9. P. 76–84.
<https://doi.org/10.1016/j.enmm.2017.12.006>
 45. *Rizwan M., Ali S., Ali B., Adrees M., Arshad M., Hussain A., ur Rehman M.Z., Waris A.A.* Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat // *Chemosphere*. 2019. № 214. P. 269–277.
 46. *Sayali S. Patil, Utkarsha U. Shedbalkar, Adam Truskewycz, Balu A. Chopade, Andrew S. Ball* Nanoparticles for environmental clean-up: A review of potential risks and emerging solutions // *Environ. Technol. Innovat.* 2016. V. 5. P. 10–21.
<https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.11.001>
 47. *Semerád J., Ševců A., Nguyen N.H.A. et al.* Discovering the potential of an nZVI-biochar composite as a material for the nanobioremediation of chlorinated solvents in groundwater: Degradation efficiency and effect on resident microorganisms // *Chemosphere*. 2021. V. 281. P. 1309–1315.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130915>
 48. *Slukovskaya M.V., Vasenev V.I., Ivashchenko K.V. et al.* Organic matter accumulation by alkaline-constructed soils in heavily metal-polluted area of Subarctic zone // *J. Soils Sediments*. 2021. P. 2071–2088.
<https://doi.org/10.1007/s11368-020-02666-4>
 49. *Sun, Q.H., Horton R.M., Bader D.A., Jones B., Zhou L., Li T.T.* Projections of temperature-related non-accidental mortality in Nanjing, China // *Biomed. Environ. Sci.* 2019. V. 32. № 2. P. 134–139.
<https://doi.org/10.3967/bes2019.019>
 50. *Wuana R.A., Okieimen F.E.* Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation // *ISRN Ecol.ogy*. 2011. P. 1–20.
 51. *Xue W.J., Huang D.L., Zeng G.M., Wan J., Cheng M., Zhang C., Hu C.J., Li J.* Performance and toxicity assessment of nanoscale zero valent iron particles in the remediation of contaminated soil: A review // *Chemosphere*. 2018. № 210. P. 1145–1156.
 52. *Yadav S.K.* Heavy metals toxicity in plants: An overview on the role of glutathione and phytochelatin in heavy metal stress tolerance of plants // *S. Afr. J. Bot.* 2010. V. 76. P. 16–179.
 53. *Yakimenko O.S., Terekhova V.A.* Humic preparations and the assessment of their biological activity for certification purposes // *Eurasian Soil Sci.* 2011. V. 44. P. 1222–1230.
<https://doi.org/10.1134/S1064229319070159>
 54. *Yang Q.Q., Li Z.Y., Lu X.N., Duan Q.N., Huang L., Bi J.* A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment // *Sci. Total Environ*. 2018. V. 42.
<https://doi.org/690-70010.1016/j.scitotenv.2018.06.068>
 55. *Zhou H.Y., Ma M.Y., Zhao Y.K., Baig S.A., Hu S.F., Ye M.Y., Wang J.L.* Integrated green complexing agent and biochar modified nano zero-valent iron for hexavalent chromium removal: A characterisation and performance study // *Sci. Total Environ*. 2022. P. 834.

Comparison of the Effectiveness of Micro- and Nanoparticles of Zero-Valent Iron in the Detoxification of Technogenic Polluted Soil

Yu. D. Sergeeva¹, A. P. Kiryushina², V. K. Calero³, O. A. Fedorova¹, and V. A. Terekhova^{1, 2, *}

¹*Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*

²*Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia*

³*Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198 Russia*

**e-mail: vterekhova@gmail.com*

We studied the safety of sorbents based on zerovalent iron in the form of micro- and nanoparticles and their detoxifying activity in peat eutrophic soil (Eutric Histosol) polluted by emissions from a copper-nickel (Cu/Ni) plant (Kola Peninsula, Russia). Iron nanoparticles, as well as iron microparticles at a dose of 2%, turned out to be non-toxic according to the results of three standard bioassays based on the reactions of test organisms of different taxonomic affiliation. Toxicity was assessed by the change in the length of the roots of seedlings of plants *Sinapis alba* L. in uncontaminated peat, by the survival of *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg and the protozoan *Paramecium caudatum* Ehrenberg in water extracts of the samples. Fe-containing preparations significantly reduced the ecotoxicity of the soil due to the extremely high content of copper (6877 mg/kg) and nickel (2580 mg/kg). Differences in the remediating ability of the preparations were revealed. According to the results of soil phytotesting, iron nanoparticles significantly outperformed the detoxifying effect of microparticles (iron powder). When analyzing the water extract, the superiority of nanoparticles in reducing soil toxicity was not found. The dependence of the assessment of the detoxifying ability of zerovalent iron nanoparticles on soil properties and the plant species used in phytotesting is discussed.

Keywords: nanosorbents, iron powder, ecotoxicity, heavy metals, remediation, bioavailability